

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 60054398
PUBLICATION DATE : 28-03-85

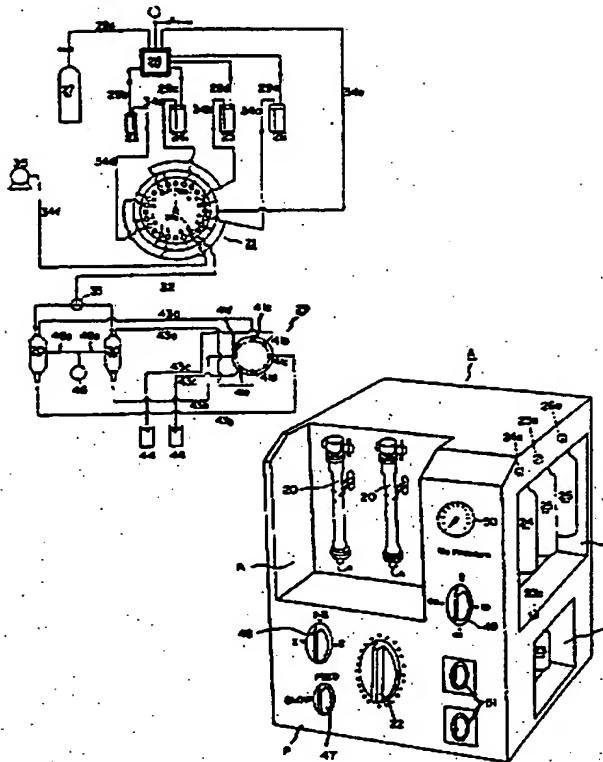
APPLICATION DATE : 02-09-83
APPLICATION NUMBER : 58161637

APPLICANT : NIPPON ZEON CO LTD;

INVENTOR : MIYAMOTO SHIGEMI;

INT.CL. : C07H 21/04

TITLE : POLYNUCLEOTIDE SYNTHESIZER



ABSTRACT : PURPOSE: The titled synthesizer that has a plurality of ports on the inlet side, connecting the reactors to reagent bottles and solvent bottles and common ports on the outlet side, connecting to the reactors, thus being provided with switching valve and feed means for solutions and solvents and simple, free from malfunctioning and inexpensive.

CONSTITUTION: The synthesizer is provided with a plurality of reagent and solvent ports 30a, 30c, on the inlet side, connecting the reactor 20 to reagent bottles 23, 24 filled with reagents required for nucleotide synthesis and solvent bottles 25, 25 and common ports 30b, 30d on the outlet side, connecting to the reactor. The paths connecting the reactor to individual reagent and solvent bottles are switched by operating the valve 21 with finger grip 22 to feed these reagents and solvents to the reactor 20. The reagent ports and solvent ports are arranged in the order of operations and one step of condensation reaction completes, when the finger grip 22 is turned around, this step is repeated to synthesize polynucleotide.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

THIS PAGE BLANK (USPTO)

⑩ 日本国特許庁 (JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報 (A) 昭60-54398

⑬ Int.Cl.
C 07 H 21/04

識別記号 廈内整理番号
7252-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)3月28日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全17頁)

⑮ 発明の名称 ポリヌクレオチド合成装置

⑯ 特 願 昭58-161637

⑰ 出 願 昭58(1983)9月2日

⑱ 発明者 新名 昭彦 川崎市川崎区夜光1-2-1 日本ゼオン株式会社技術開発センター内
⑲ 発明者 大平 龍夫 東京都千代田区丸の内2丁目6番1号 日本ゼオン株式会社内
⑳ 発明者 宮本 茂実 川崎市川崎区夜光1-2-1 日本ゼオン株式会社技術開発センター内
㉑ 出願人 日本ゼオン株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目6番1号
㉒ 代理人 弁理士 滝野 秀雄 外1名

明細書

1. 発明の名称

ポリヌクレオチド合成装置

2. 特許請求の範囲

反応器と、ポリヌクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充填された試薬ピン、溶剤ピンと、入口側に該試薬ピン、溶剤ピンと接続される複数の試薬、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試薬ピン、溶剤ピンと反応器とを接続する流路を一個の操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試薬ピン、溶剤ピンから試薬、溶剤等を反応器に送り込む給液手段とを具備し、かつ前記試薬、溶剤ポートを給液操作順に配置して、前記操作ツマミを回転させたとき一つの結合工程における給排液操作が完了するよう構成してなることを特徴とするポリヌクレオチド合成装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明はポリヌクレオチド合成装置に関する。

ポリヌクレオチド、例えばDNA（デオキシリボ核酸）を合成する方法として、ヌクレオチドを化学結合させたサポートを使用し、リン酸トリエステル法、リン酸ジエステル法、フォスファイト法などにより順次ヌクレオチドを結合していく方法が知られている。この合成方法では、洗浄→脱保護→洗浄→結合反応→洗浄等の工程を繰り返すもので、工程の種類は多くないが、繰り返し操作が多く煩雑である。

近年、合成操作の煩わしさを解消する目的で種々のDNA合成装置が提案されている。

例えば、装置本体に、反応器と、ポリヌクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充填された試薬ピン、溶剤ピンを装備し、かつ各試薬ピン、溶剤ピンと反応器とを接続する流路にそれぞれコックを設けて、密閉ガスの圧力を利用し、各コックを開閉操作して試薬ピン、溶剤ピンから反応器に試薬、溶剤等を順次送り込み、洗浄→脱保護→洗浄等を繰り返すように構成したものが知られている。

しかしながら、上記装置では、多数のコックがあり、誤操作するおそれがあった。このような誤操作すると、初めからやり直さなければならず、それまでの作業が全て無駄となることがあった。また、自動化する場合には、コックを電磁弁で置き換えることが考えられるが、多数の電磁弁を使用するためコスト高となる上に、制御が複雑となる等の問題があった。

本願人は上記問題を解決するため、第1図に示すような装置を提案した（特願昭58-126249号）。図中符号1は空素ポンベ、2はディストリビューター、3a～3iは空素ガスの流路、4, 5, 6, 8は試験ビン、7, 9は溶剤ビン、10は八方切換弁、11b～11gは試験、溶剤の流路、12は二方コック、13は三方コック、14a～14hは試験、溶剤、空素ガスの流路、15は八方コック、16は反応器、17は廃液タンクである。

上記装置によれば、例えば、八方切換弁10に設けた操作ツマミ（図示せず）により共通ポート

10hをポート10bに合わせると、試験ビン4が反応器16, 16と接続される。すると、空素ポンベ1からディストリビューター2、流路3bを通って試験ビン4に送られたN₂ガスの圧力により、試験ビン4から流路11b、ポート10b、共通ポート10h、二方コック12、三方コック13、流路14a, 14bを通って試験（不活性化剤）が反応器16, 16にそれぞれ送り込まれる。このとき、八方コック15は実線位置、すなわちFB RDにしておく。

また、操作ツマミにより共通ポート10hをポート10cに合わせると、試験ビン5が反応器16, 16と接続され、同様にN₂ガスの圧力により試験ビン5から試験（総合剤／溶剤II溶液）が反応器16, 16に送り込まれる。さらに、共通ポート10hをポート10dに合わせると試験ビン6から試験（不活性化剤／溶剤II溶液）が、またポート10eに合わせると溶剤ビン7から溶剤Iが、またポート10fに合わせると試験ビン8から試験（脱保護剤／溶剤I）が、またポート

10gに合わせると溶剤ビン9から溶剤IIがそれぞれ反応器16, 16に送り込まれる。

なお、反応器16, 16から排液するには、八方コック15を点線位置、すなわちBLOWにして、コック16a, 16aを開く。

上述のように、一個の装置ツマミによって流路11b～11gを切換えることができ、各流路に設けた多数のコックを開閉操作する従来の装置に比して誤操作を少なくすることができると共に、自動化も容易に行なえる。

しかし、一つの総合工程において八方切換弁10の動作をみると、共通ポート10hを、ポート10g→10d→10b→10g→10c→10f→10e→10g→10cの順に切換えるようになっている（なお、ポート10b～10gを切換えるとき一旦ポート10aに切換えてから行なう）。すなわち、八方切換弁10（ツマミ）の正転、反転を繰り返す必要があり、しかもポート10b→10gに切換えるときには二つのポート10c, 10dを通り越し、またポート10g→1

0eに切換えるときには一つのポート10fを通り越す。

このため、八方切換弁10を動作するモータの制御が複雑となる問題があった。

本発明は上記事情に鑑みてなされたもので、その目的とするところは、誤操作を少なくすることができる上に、自動化に際に制御が簡単に行なえるポリスクレオチド合成装置を提供することである。

すなわち、本発明は、反応器と、ポリスクレオチド合成反応に必要な試験、溶剤等が充填された試験ビン、溶剤ビンと、入口側に該試験ビン、溶剤ビンと接続される複数の試験、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試験ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試験ビン、溶剤ビンから試験、溶剤等を反応器に送り込む給液手段とを具備し、かつ前記入口側の複数の試験、溶剤ポートを給液操作順に配列して、

前記操作ツマミを一回転させたとき一つの結合工程における給排液操作が完了するよう構成することを特徴としている。

したがって、本発明によれば、従来の装置のような換操作を更に少なくすることができ、しかも自動化に際に切換弁の制御が簡単に行なえる。

以下、本発明の実施例を図面を参照して説明する。

第2図は本発明の合成装置の一例を示す總体斜視図、第3図は同合成装置のフローシートである。本実施例の合成装置によると、装置本体Aの前面パネルPの一端部側(第2図左側)の上部には四部P₁が設けられていて、該四部P₁内には反応器20, 20が装備されている。これら反応器20, 20は、第3図に示すようにシェーカー46のアーム46aに支持されている。

また、前面パネルPには、第1図に示す八方切換弁10に相当する十六方切換弁21(第3図、第4図、第5図a, b参照、本発明の特徴部分)の操作ツマミ22が装備されている。

シ23～26から反応器20, 20に試薬、溶剤が送られる。

試薬ビン23, 24、溶剤ビン25, 26と反応器20, 20との間に十六方切換弁21が設けられている。

次に本発明の特徴部分であるこの十六方切換弁21を第4図及び第5図a, bを参照して詳細に説明する。

十六方切換弁21は、弁本体30と、該弁本体30に回転自在に装備された回転部31とから構成されている。

弁本体30には、入口側のポート30a～30pと出口側の共通ポート30qが配設されている。一方、回転部31の外周面には周溝31aと縦溝31bとが形成されていて、回転部31を回転させることにより、共通ポート30qが該周溝31aと縦溝31bを介してポート30a～30pに順次連通される。

共通ポート30qは、流路32と該流路32に設けた三方コック33を介して反応器20, 20

装置本体Aの側面には四部A₁～A₄が設けられていて、下方の四部A₁には不活性化剤と不活性化剤を充填した試薬ビン23がセットされ、また上方の四部A₂には脱保護剤(脱トリチル剤)／溶剤I溶液を充填した試薬ビン24と溶剤Iを充填した溶剤ビン25と溶剤IIを充填した溶剤ビン26とがセットされている。

本実施例では、第1図に示す試薬ビン5(総合剤／溶剤II溶液)が省略され、不活性化剤と不活性化剤とは上述の如く同じ試薬ビン23内に充填されている。

また、装置本体Aの内部には、第3図に示すように、小型の空気ポンベ27と、ディストリビューター28と、六方コック29と、前述の十六方切換弁21等が装備されている。

空気ポンベ27のN₂ガスは、流路29aを通ってディストリビューター28に送られ、ここで分流された後、流路29b, 29c, 29d, 29eを通って試薬ビン23, 24と溶剤ビン25, 26に送られる。このN₂ガスの圧力により各ビ

の上部と接続されている。

ポート30a～30pのうち、試薬、溶剤ポート30a, 30c, 30e, 30i, 30j, 30k, 30m, 30nは流路34a～34dを介して試薬ビン23, 24、溶剤ビン25, 26と接続され、またガスポート30b, 30d, 30f, 30h, 30j, 30k, 30n, 30pは流路34eを介してディストリビューター28に接続されている。

試薬、溶剤ポート30a, 30c, 30e～は給液操作部に配設され、そしてこれらの間にガスポート30b, 30d, 30f～と給液停止部30rがそれぞれ配設されている。

したがって、回転部31を一回転させると、試薬ビン24から脱保護剤／溶剤I～N₂ガス～給液停止～…～溶剤ビン25から溶剤I～N₂ガス～給液停止の順で給液操作が行なわれる。すなわち、一つの結合工程における給排液操作を完了することができる。

給液停止部30rは、第1図に示す二方コック

12の作用をするものであり、本発明ではこの二方コック12が省略されている。

ポート30gは、流路34fを介して真空ポンプ35と接続されている。このポート30gに切換えると、反応器20, 20が真空ポンプ35に接続されて、共沸脱水を行なうことができる。

装置の自動化に際しては、回転部31にステッピングモータあるいはサーボモータを連結して、制御装置に組込んだプログラムに従ってモータをシーケンス制御する。このとき、試薬、溶剤ポート30a, 30c, 30e…は給液操作部に配置されているため、第1図に示す装置のようにポートを一つあるいは二つ通り越すようなことがなく、モータの制御が簡単となる。なお、ドラム式のシーケンサーを使用してモータを駆動してもよい。

上述の回転部31は、一端部側(第5図bの左側)が細径となるようにテーパ状に形成され、かつ弁本体30とこの回転部31との間には、回転部31をその一端部側に付勢するスプリング36が介在されている。したがって、弁本体30と回

転部31との間に隙間が生じるおそれがなく、各ポート30a～30pが互いに連通することなくシールされる。また、ポート30a～30pと互通ポート30qも周溝31a、縦溝31b以外で連通することなくシールされる。

また、弁本体30の一端部側には、クリック機構37が設けられている。このクリック機構37は、回転部31の一端部に固定されて弁本体30の一端面に接する円板38と、弁本体30の一端面に設けた孔30'内に押入されてスプリング39の彈力により円板38の接觸面側に付勢されるポール40とから構成されている。円板38の接觸面には、各ポート30a～30pと給液停止部30rに対応して凹部38aが設けられていて、該凹部38aにポール40が係合することにより回転子31の位置決めがなされる。

前述の六方コック29は、第6図a, bに示すように、コック本体41と、該コック本体41に回動自在に装備された回転部42とから構成されている。

11

コック本体41にはポート41a～41fが設けられ、また回転部42には該ポート41a～41fを互いに連通させる周溝42a～42dが設けられている。

ポート41a～41fと反応器20, 20との接続関係は、第3図に示すようになっている。すなわち、ポート41a, 41dは流路43a, 43aを介して反応器20, 20の上部と接続され、またポート41c, 41fは流路43b, 43bを介して反応器20, 20の底部と接続されている。また、ポート41b, 41eは流路43c, 43cを介して廃液タンク44, 44と接続されている。

第3図に示す実線状態、すなわちPBED状態では周溝42a, 42cを介してポート41aと41b、ポート41dと41eが連通しており、ポート41c, 41fは閉じている。回転部42を回転させて、周溝42a～42fを同図の点線位置に移動させると、周溝42a, 42cを介してポート41bと41c、ポート41dと41f

12

が連通し、ポート41a, 41dは閉じ、BLOW状態となる。

なお、この六方コック29にもクリック機構45が設けられている。このクリック機構45は、周溝42a～42dを第3図の実線位置と点線位置に位置決める外に、該実線位置と点線位置の中間に位置決める。この中間の位置では、ポート41a～41fは全閉となる。

六方コック29は、第1図に示す八方コック15と反応器16, 16のコック16a, 16aとを兼用したものである。したがって、反応器20, 20にはコックが装備されていない。この六方コック29の回転部42に十六方切換弁21の場合と同様に、ステッピングモータ等を連結して、制御装置に組んだプログラムに従ってモータを駆動することにより、自動化することができる。

なお、前面パネルPには、六方コック29の操作ツマミ47と、三方コック33の操作ツマミ48と、シェカーリンク46のタイマー装置(図示せず)の操作ツマミ49と、ディストリビューター28

13

14

に接続されたN₂ガス圧力計50と、電源スイッチ51等が装備されている。

また、四部A₁、A₂の入井部分には、詳細に図示しないが、ピン23～26の口部の取付部23a～26aが設けられている。

第7図は反応器20の拡大断面図である。同図によると、反応器本体55と、上下栓体56、57とから構成されている。

上下栓体56、57は、そのフランジ部56a、57aを反応器本体55の上下端部に設けられたフランジ部55a、55bにクリップ等の固定手段で固定することにより反応器本体55に取付けられる。

反応器本体55はガラスからなり、その上下端部内に端部55c、55dが形成されていて、これら端部55c、55dに当接するまで上下栓体56、57の栓部56b、57bが嵌合されている。

上下栓体56、57は前述の試薬、溶剤等と反応せず、かつ彈性変形可能な材料、例えばフロロ

シリコンゴム、フッ素ゴム、六フッ化プロピレン-四フッ化エチレン共重合体等から形成されている。

栓部56b、57bの外径は、上下端部の内径よりも若干大きく設定されていて、栓部56a、57aの外面が上下端部の内面に密着して気密及び水密性が保持されている。

上栓体56には、原料を注入するためのコック58が設けられている。また、第8図に示すように、流路32が接続される通路56cと流路43aが接続される通路56dがそれぞれ形成されている。

また、下栓体57には、流路43bが接続される通路57cが形成されている。

なお、栓部56b、57bに設けた周溝56'、57'bにOリングを取り付けるようにしてもよい。

次に上記合成装置を使用してDNAを合成する操作を説明する。

まず、反応器20、20にスクレオシドを結合

15

させたサポート（シリカゲル等）を充填し、また試薬ピン23、24、溶剤ピン25、26を取付部23a～26aにセットする。そして、溶剤1でサポートを膨潤させる。

このようにして準備操作が終了したら、脱トリチルを行なう。この脱トリチル工程（I）では、十六切換弁21の先端ポート30qをポート30aに切換えて試薬ピン24から脱保護剤／溶剤1溶液を反応器20、20に送り込む。所定量に達したら、ポート30bに切換える。すると、N₂ガスが流路32に残っている脱保護剤／溶剤1溶液を反応器20、20に送り込む。次いで、給液停止部30rに切換える。この後、シェーカー46を動作し、所定時間経過後、大方コック29をBLOWにする（第3図の点線状態）。そして、ポート30bに切換えて、N₂ガスの圧力により反応器20、20から脱保護剤／溶剤1溶液を流路43b、ポート41c、41b、41a、41f、流路43cを通じて废液タンク44、44に排出する。排出が終了したら、ポート30cに切換え、

16

大方コック29をPEBDにする（第3図の実線状態）。

次いで、溶剤1により洗浄を行なう。この洗浄工程（II）で、十六方切換弁21を、ポート30c→30d→30rの順に切換えて、溶剤ピン25から溶剤1を流路32に残さずに反応器20、20送り込む。そして、シェーカー46を所定時間動作後、大方コック29をBLOWにし、次いで十六切換弁21をポート30d→30rに切換えて、溶剤1を排液し、その後に大方コック29をPEBDにする。

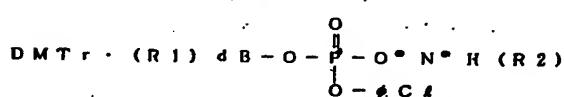
脱トリチル工程（I）、洗浄工程（II）は、必要により複数回繰り返してもよい。

この後、溶剤IIにより洗浄を行なう。この洗浄工程（III）では、十六方切換弁21を、ポート30e→30f→30rの順に切換えて、溶剤ピン26から溶剤IIを流路32に残すことなく反応器20、20に送り込む。そして、シェーカー46を所定時間動作後、大方コック29をBLOWにし、次いで十六切換弁21をポート30f→30r

に切換えて、溶剤IIの排液完了後に六方コック29をFEBDにする。

この洗浄工程(Ⅳ)も必要により複数回繰り返してもよい。

このようにしてから、原料注入を行なう。この原料注入工程(IV)では、コック58(第7図参照)を開いて、反応器20, 20の上部から下記の構造式に示すモノマー塩を溶剤IIで溶解した原料溶液を注入する。



ここで、R₁は保護基（ベニゾイル基など）、R₂はアルキル基であり、またBはアデニン（A）、グアニン（G）、シトシン（C）、チミン（T）等の核酸塗基である。

なお、モノマー塩の代わりにダイマー塩を使用してもよい。

次いで、原料中の水分を減圧共沸脱水する。この脱水工程(V)では、VI方コック29を全閉にする。そして、十六方切換弁21をポート30aに切換えて、真空ポンプ35を動作させる。これにより、反応器20, 20内が減圧されて、原料から溶剤II中に溶解した水分が共沸脱水される。脱水が終了したら、ポート30bに切換えてN₂ガスを充填する。この後、給液停止部30cに切換え、六方コック29を正BFDにする。

この後、縮合する。この縮合工程(VI)では、反応器2.0., 2.0の上部から縮合剤／溶剤Ⅱ溶液を注入し、シェカ－4.6を動作し、またヒータ(図示せず)により反応器2.0, 2.0を加温する。縮合反応終了後、シェカ－4.6、ヒータの動作を停止する。そして、六方コック2.9をBLOWにし、十六方切換弁2.1を、ポート3.0丸、3.0丸に切換えて排液する。排液完了後に六方コック2.9をPUMPにする。

次いで、溶剤にて洗浄する。この洗浄工程(W)では、十六方切換弁2上を、ポート3.01→3.0

19

→ 30 分の間に切換えて行な。操作内容は洗浄工程(Ⅳ)と同じである。

この洗浄工程.(W)も必要により複数回繰り返してよか。

次いで、キャッピングをする。このキャッピング工程(4回)では、十六方切換弁21を、ポート3-0 k → 3-0 l → 3-0 r の順で切換えて、試験ビン2-8から不活性化剤、不活性化助剤／溶剤Ⅱ溶液を流路3-2に残すこと反応器20・20に送り込む。次いで、シェカーハンドル4-6を所定時間動作後、六方コック2-9をLOWにし、十六方切換弁21をポート3-0 l → 3-0 r に切換えて排液する。排液完了後に六方コック2-9をFREEDにする。

次いで、溶剤Ⅱで洗浄する。この洗浄工程(IV)では、十六方切換亦21を、ポート30m²→20m²→30.0rの順に切換えて行な。操作内容は洗浄工程(III)と同じである。

次いで、溶剤 1 で洗浄する。この洗浄工程(X)では、十六方切換弁 21 を、ポート 3.0 → 3.0 → 3.0 の順に切換えて行なう。操作内容は洗浄

2 0

工程 (Ⅷ) と同じである。
なお、洗浄工程 (Ⅸ), (X) は必要により複

上述の工程 (I), (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII) は必要により複数回繰り返すが、このとき六方コック 29 のみを操作して行なうようにしてもよい。例えば、工程 (II) を繰り返す場合、ポート 30.c に合わせたままで、六方コック 29 を F B E D → B L O W → F B E D → B L O W の順で切換え操作する；これにより、操作回数を削減することが可能となる。

・このように工程(1)～(X)を繰り返すことにより、スクレオチド鎖を間を締合する。

本実験例では、第1図に示す二方コック12、
や反応器16、16のコック16a、16bを十六方切換弁21、六方コック29で兼用している
ため、半操作回数を減らすことができる。

例えば、溶剤 B で洗浄する場合、第1図に示す装置では、①八方切換弁1-0のポートを1-0'に切換える、②二方コック1-2を開一閉一開操作す

る、⑨ポートを10°に切換える、⑩二方コック12を閉一閉一閉操作する、⑪八方コック15をFEED→BLOWにする、⑫コック16を閉一閉一閉操作する、の八方コック15をBLOW→FEEDにする。

これに対し、本実施例では、前述の如く、①十六方切換弁21のポートを30°→30'f→30'rの順に切換える、②六方コック29をFEED→BLOWにする、③ポートを30'f→30'rに切換える、④六方コック29をBLOW→FEEDにする。

すなわち、本実施例では、弁操作回数を3回減らすことができる。

第9図は、十六方切換弁21の他の実施例を示している。同実施例では、回転部31をスプリング52の弾力に抗して同図に示す矢印B方向に押圧して、緑色3-1bをポート30a～30pに合わせたときにのみ、これらポート30a～30pが共通ポート30qと連通する。すなわち、回転部31を押圧している間に、試薬、溶剤、N₂ガ

スを反応器20、20に供給することができる。

なお、第9図中53は、回転部31の回転を円滑にするペアリングである。

第10図は六方コック29の代わりに二連二方コック54を使用した場合を示している。この二連二方コック54では、ポート54a、54bが流路43b、43bを介して反応器20、20の底部に接続され、またポート54c、54dが流路43c、43cを介して焼液タンク44、44に接続されている。同図の実線状態ではFEED、点線状態ではBLOWになっている。

同実施例によれば、前述の実施例よりも更に弁操作回数を減らすことができる。例えば、溶剤IIで洗浄する場合、①十六方切換弁21のポートを30°→30'f→30'rの順で切換える、②二連二方コック54をFEED→BLOW→FEEDにする。すなわち、弁操作回数を前述の実施例よりも2回減らすことができ、第1図に示す装置の場合とでは5回減らすことができる。このため、合成操作時間を短縮することができる。なお、こ

23

の実施例では、反応器20、20内に液が半分位い送り込まれど内圧が1kg/cm²となり、液を送り込むためのN₂ガスの圧力とほぼ等しくなるので、いちいち給液停止部30rに切換えなくても、内圧により給液が自動的に停止し、弁操作回数を更に減らすことが可能となる。

上述の二連二方コック54は、第11図a、bに示すように、本体60と回転部61とクリック機構部62とから構成されている。本体60には前述のポート54'a～54'dが形成され、また回転部61の周面にはこれらポート54'a～54'dを連通する溝61'a、61'bが形成されている。

なお、前述の十六方切換弁21は、第12図a、bに示すように構成してもよい。この場合、弁本体30の端面中央部に共通ポート30qが形成されていると共に、これを閉むように試薬、溶剤ポート30a、30c…が形成され、また弁本体30の周面にガスポート30'b、30'd…が放射状に形成されている。回転部31には、共通ポート30qとポート30a～30pとを連通する連通

24

溝31cがその端面から周面にかけて形成されている。

第13図は十六方切換弁21の代わりに2つの八方切換弁63、64を使用した場合を示している。一方の八方切換弁63には前述のポート30a～30pのうち前半のポート30a～30hが給液操作頭に配置され、また他方の八方切換弁64には後半のポート30'i～30pが同じく給液操作頭に配置されている。また、これら八方切換弁63、64にはそれぞれ共通ポート30qが配置されている。

この実施例では、一方の八方切換弁63の切換操作により前述の構成(1)～(7)を行なった後、他方の八方切換弁64の切換操作により構成(8)～(X)を行なう。

このように、ポート30a～30pを二つの八方切換弁63、64に分けて配置することにより、各ポート30a～30p間の間隔を広げることができてシール性を確保することが容易で、弁の信頼性を向上させることができる。

第14図a、bはこれら八方切換弁63、64を

25

示している。基本的な構成は第12図a, bに示す十六方切換弁21と同じであるが、ポート30a～30p間の間隔が広くなっている。

第15図は六方コック29の代わりに八方コック6を使用し、N₂ガスでバブリングできるようにした場合を示している。同図によると、八方コック6のポート65g, 65hには流路34aから分岐した分岐流路66が接続されていて、この分岐流路66にはバブリングに必要な量のN₂ガスを流すオリフィス67が設けられている。なお、ポート65a～65fは六方コック29の場合と同様にして反応器20, 20廃液タンク4d, 4eに接続される。

この実施例によると、八方コック65をFEEDにしたとき（実線状態）、オリフィス67を通った少量のN₂ガスが反応器20, 20の底部から吹き込まれてバブリングが行なわれる。したがって、シーカー46を省略することができる。

なお、分岐流路66にブッシュバルブを設けて、このブッシュバルブを押圧している間バブリングするようにしてもよい。

27

た、キャッピング工程（W）の後に、反応器20, 20内に残っている不活性化助剤を除去するために溶剤Ⅱで洗浄を行なう洗浄工程（W）を設けているが、この洗浄工程（W）のすぐ後に溶剤Ⅰで洗浄を行なう洗浄工程（X）を設けているので、洗浄工程（W）を省略しても洗浄工程（X）で不活性化剤、不活性化助剤を溶解除去することができる。

第18図a, bは上述の十二方切換弁70を示している。基本的な構成は第12図a, bに示す十六切換弁21と同じであるが、ポート30a～30p間の間隔がポート30c, 30d, 30m, 30nを省略した分だけ広くなってしまい、ポート30a～30pのシール性を確保することが容易で、弁の信頼性を向上させることができる。

上記実施例では、いずれも反応器20を二本装備した場合を示したが、これに限定されず、一本あるいは三本以上装備してもよい。反応器20を一本あるいは三本以上装備した場合には、六方コック29、八方コック65の構成が異なってくる。

また、原料をコック58を開いて反応器20に注

第16図は上述の八方コック65を示している。同図によると、本体68に上述のポート65a～65hが放射状に配置されていて、その中心部に回転部69が回転可能に設けられている。そして、この回転部69の周面にポート65a～65hを互いに連通する周溝69a～69dが形成されている。

第17図は前述の十六方切換弁21の代わりに十二方切換弁70を使用した場合を示している。この実施例では、前述のポート30c, 30d, 30m, 30nを省略している。この理由は、脱トリチル工程で使用する脱保護剤と、キャッピング工程で使用する不活性化剤、不活性化助剤がそれぞれ溶剤Ⅰと溶剤Ⅱに溶解するためである。すなわち、前述の実施例では、脱トリチル工程（I）の後に、反応器20, 20内に残っている脱保護剤（脱トリチル剤）を除去するために溶剤Ⅰで洗浄を行なう洗浄工程（II）を設けているが、この洗浄工程（II）のすぐ後に溶剤Ⅱで洗浄を行なう洗浄工程（III）を設けているので、洗浄工程（III）を省略しても洗浄工程（III）で脱保護剤を溶解除去することができる。ま

28

入するようにした場合を示したが、例えば原料を溶剤で溶解した原料溶液をビンに充填して、これをN₂ガスの圧力により反応器20に送り込むようにしてもよい。

本発明の合成装置は上述のようにDNAを合成する場合に限定されず、RNA（リボ核酸）の合成にも使用できる。

以上説明したように本発明によれば、各試験ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を一個の操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁の入口側の試験、溶剤ポートを給液操作頭に配置して、操作ツマミを一回転させたとき一つの結合工程における給排液操作が完了するよう構成したので、弁操作が非常に簡単となり、複操作を少なくすることができる。

また、自動化に際しては、多數の電磁弁を使用しなくてもすみ、例えばステッピングモータ、サーボモータを切換弁に連結するだけでよく、その制御も簡単であり、自動化への移行が容易である。

4. 図面の簡単な説明

29

第1図は従来の装置のフローシート、第2図は本発明の一実施例を示す総体斜視図、第3図は同フローシート、第4図は第3図のフローシートの要部の拡大図、第5図a, bは十六方切換弁21の断面図、第6図a, bは六方コック29の断面図、第7図は反応器20の断面図、第8図は上栓体56の断面図、第9図は十六方切換弁21の他の実施例を示す断面図、第10図は六方コック29の代わりに二連二方コック54を使用した他の実施例を示すフローシート、第11図aは二連二方コック54の断面図、同図bは同平面図、第12図aは十六方切換弁21の他の実施例を示す断面図、同図bは同平面図、第13図は十六方切換弁21の代わりに八方切換弁を二個使用した他の実施例を示すフローシート、第14図aは同実施例に使用する八方切換弁の断面図、同図bは同平面図、第15図はN₂ガスでバーリングができるようにした他の実施例を示すフローシート、第16図は同実施例に使用する八方コックの断面図、第17図は給液操作を二つ省略した他の実施例に使用する十二方切換弁の略解図、第18図aは同十二

方切換弁の平面図、同図bは同断面図である。

- 20…反応器
- 23, 24…試験ピン
- 25, 26…溶剤ピン
- 21, 63, 64…切換弁
- 30a, 30c…試験、溶剤ポート
- 30b, 30d…ガスポート
- 30e…給液停止部
- 27…窒素ポンベ
- 28…ディストリビュータ } 給液手段
- 22…操作ツマミ

特許出願人

日本ゼオン株式会社

代理人

源野秀雄



同

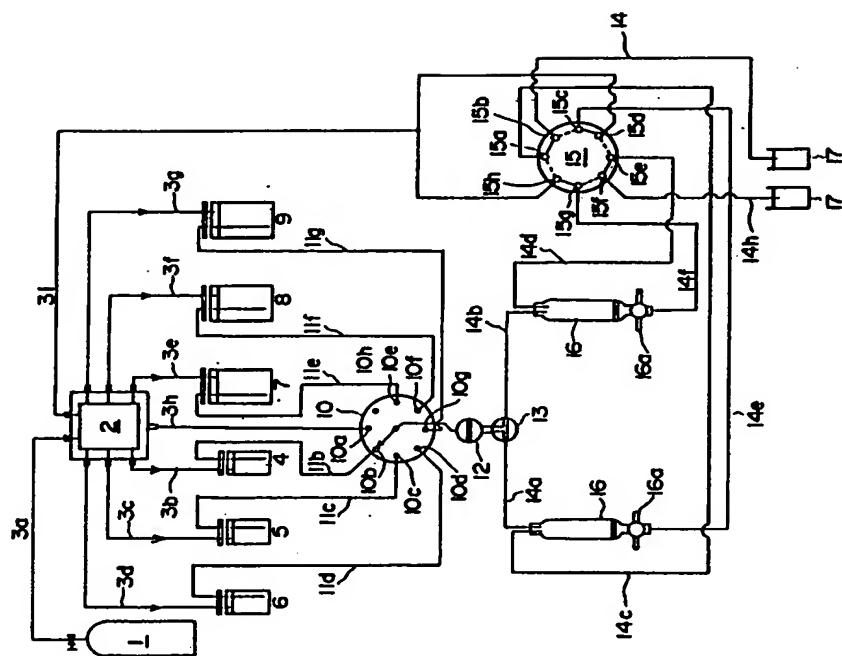
池尾勝巳



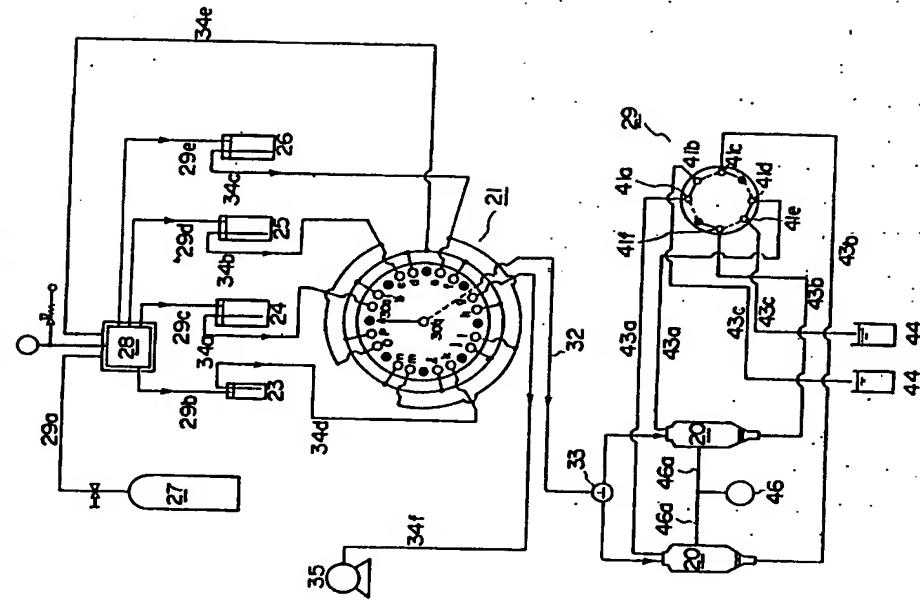
3 1

3 2

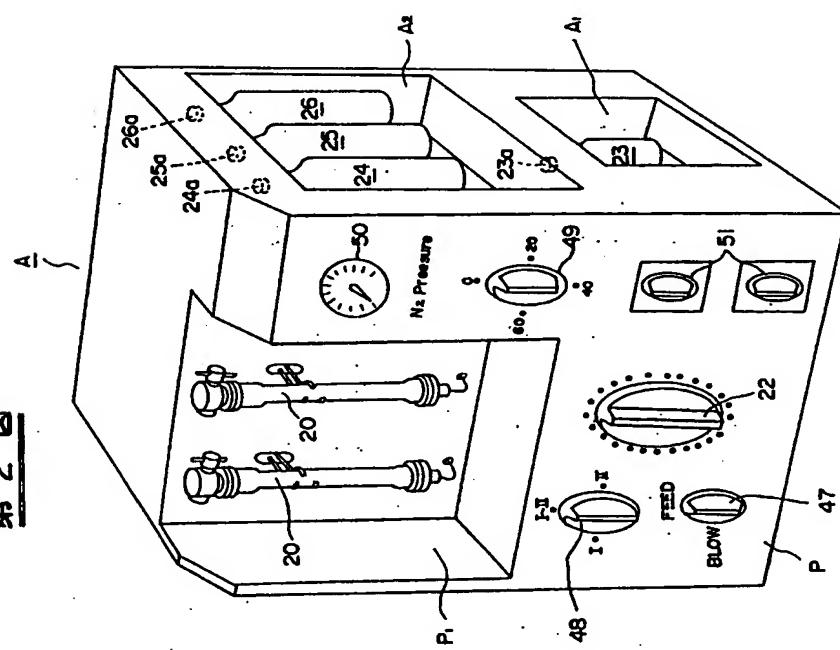
図一概



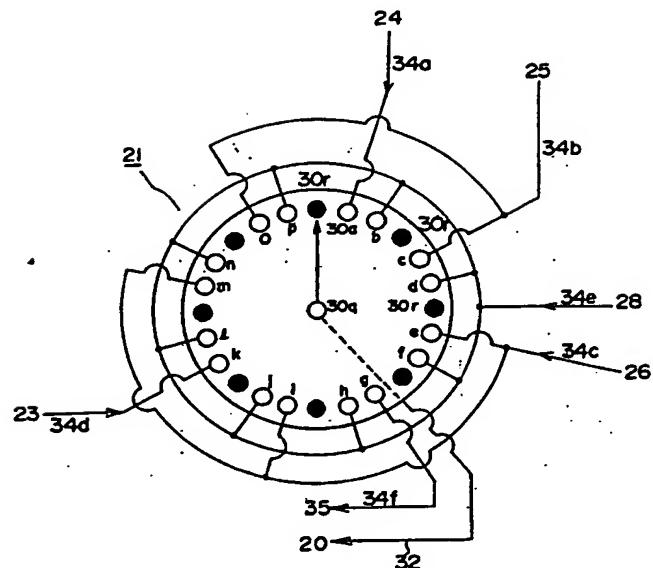
卷三



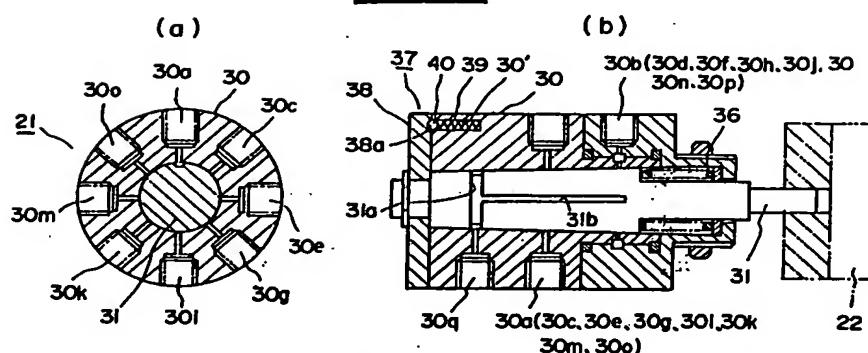
四
二



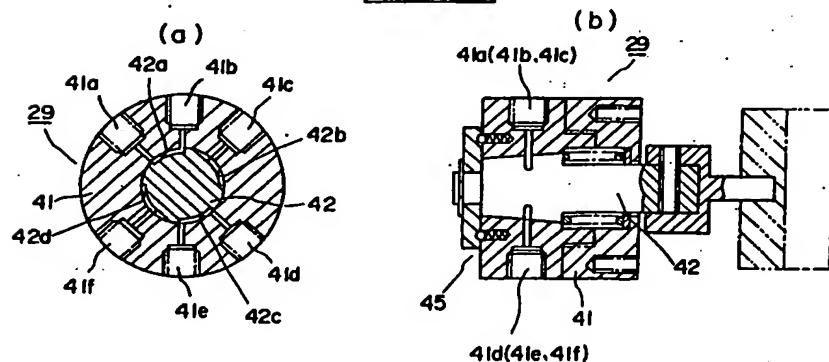
第4回



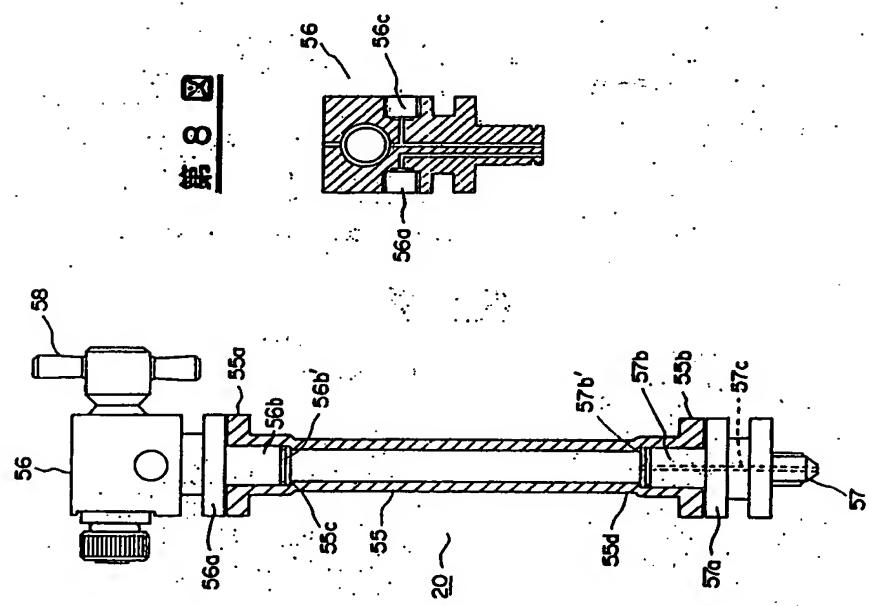
第 5 回



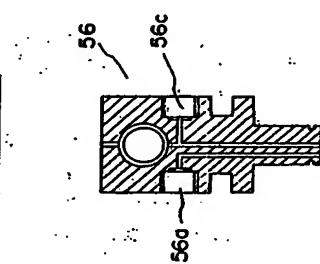
第·6 図



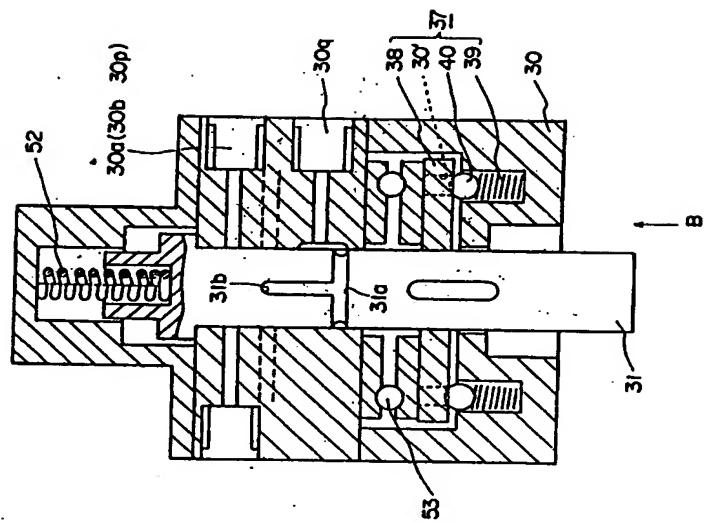
第7図



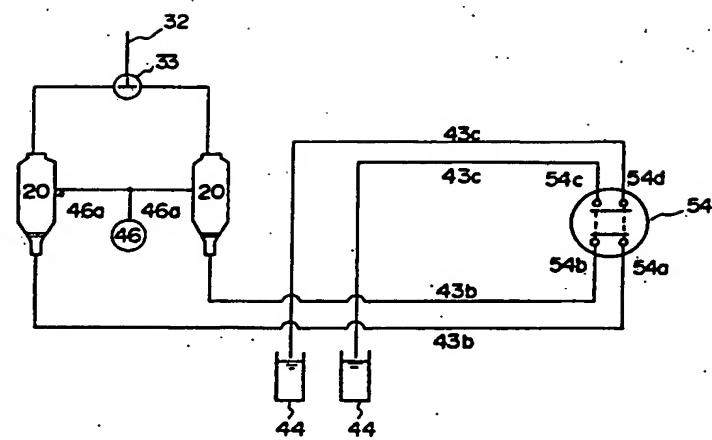
第8図



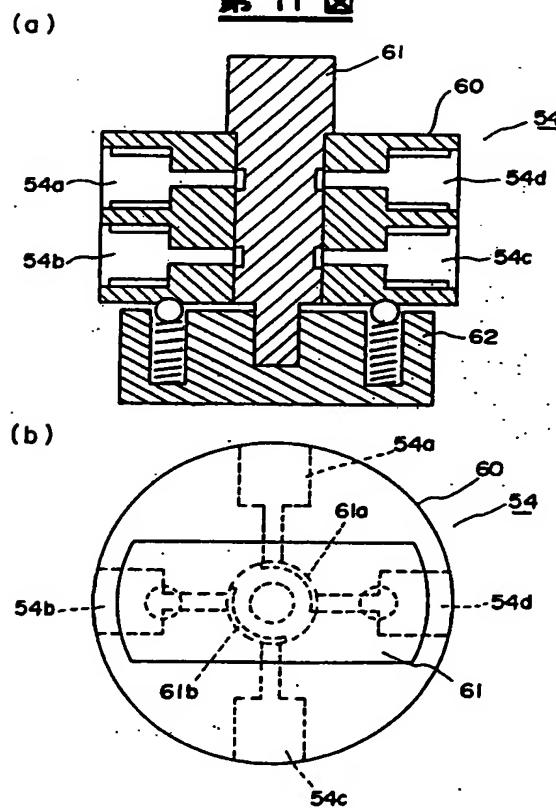
第9図



第10図



第11図



四
第13

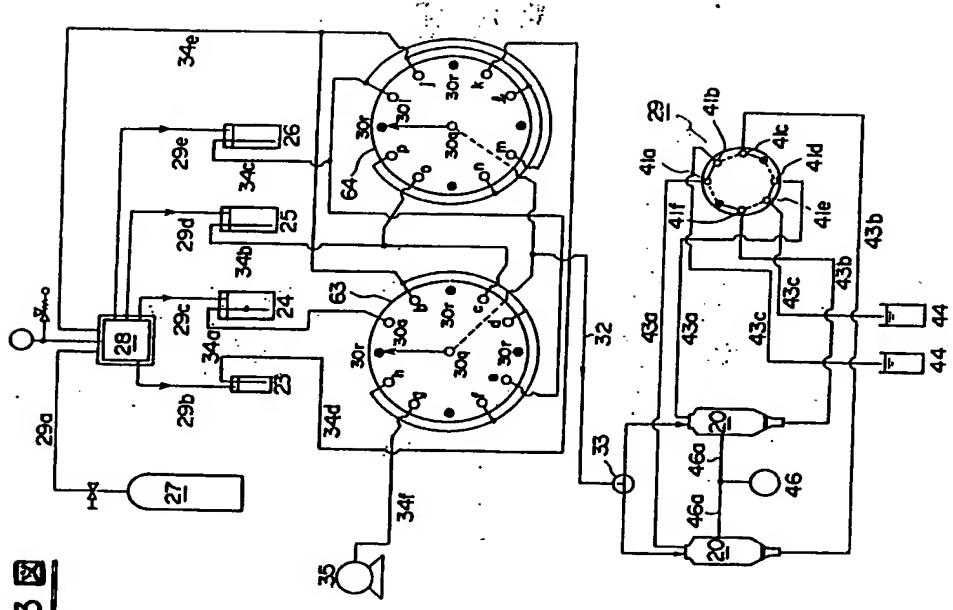
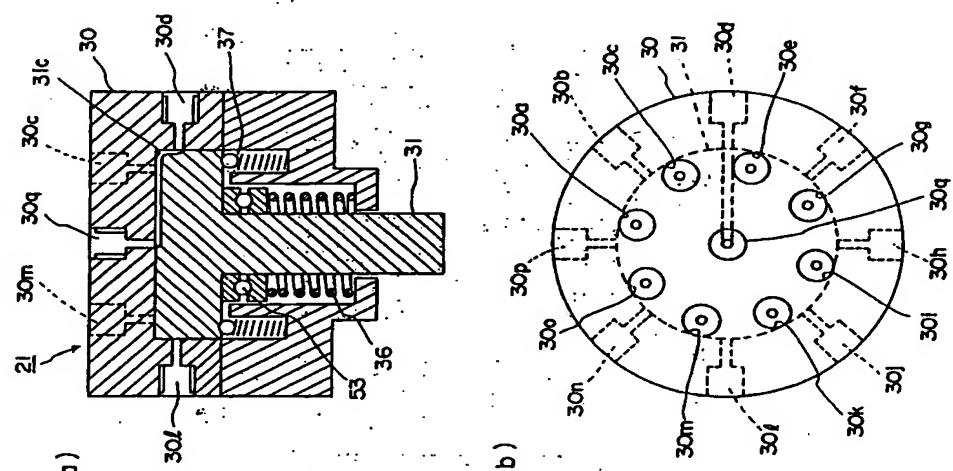
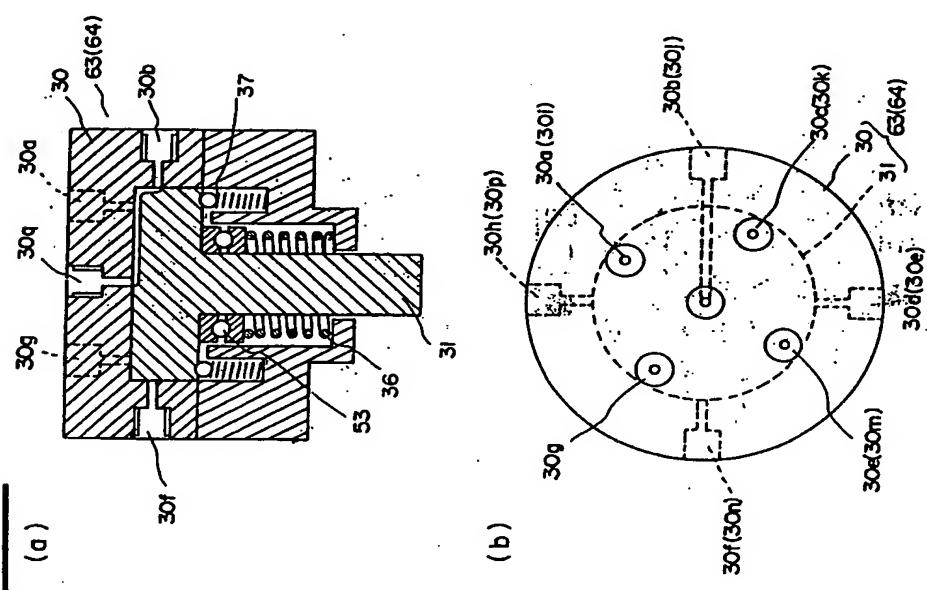
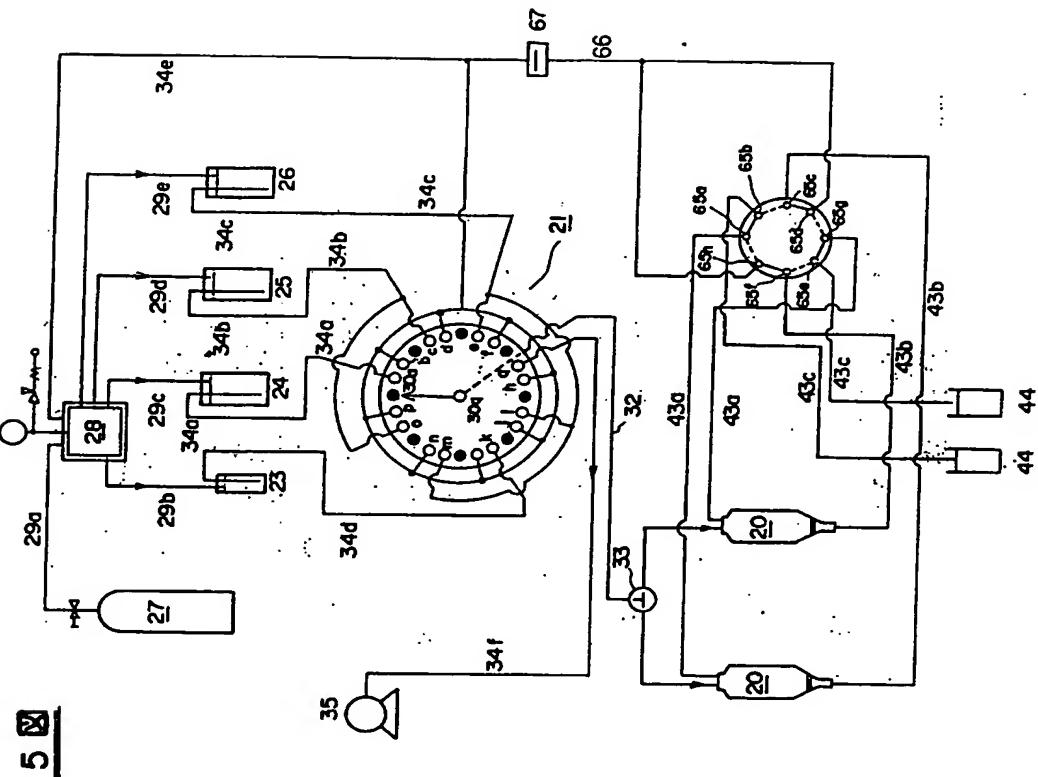
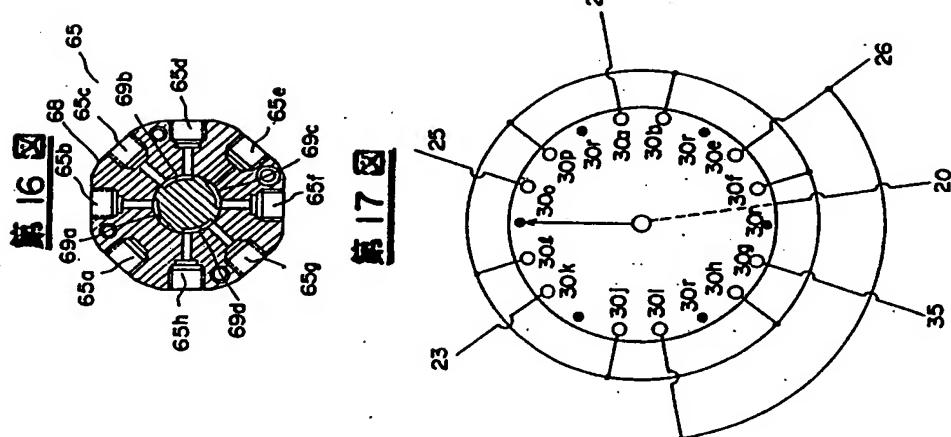
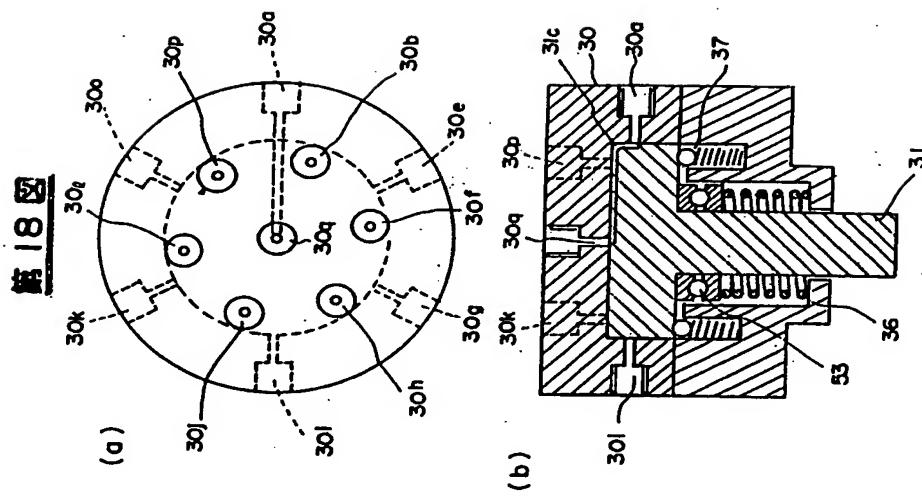


圖12



第14図
第15図





手 続 补 正 書(自発)

昭和 58 年 10 月 13 日

特許庁長官 若杉和夫 殿

1. 事件の表示 昭和 58 年 特許願 第 161637 号

2. 発明の名称

ポリヌクレオチド合成装置

3. 补正をする者

事件との因縁 特許出願人

住所 東京都千代田区丸の内 2 丁目 8 番 1 号

名前 日本ゼオン株式会社

4. 代理人

住所 東京都千代田区内幸町 2-1-1 (飯野ビル) TEL 100
電話番号 (03) 2171118

氏名 (6069) 代理士 飯野 英雄 1 名



5. 补正命令の日付 昭和 年 月 日

58.10.13

出願日

6. 补正により増加する発明の数

7. 补正の対象

明細書の「特許請求の範囲」及び「発明の詳細な説明」の備

8. 补正の内容 別紙のとおり

個の操作ツマミ」を「操作ツマミ」と補正する。

補正の内容(特願昭58-161637号)

1. 特許請求の範囲を下記の通り補正する。

記

反応器と、ポリヌクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充填された試薬ピン、溶剤ピンと、入口側に該試薬ピン、溶剤ピンと接続される複数の試薬、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試薬ピン、溶剤ピンと反応器とを接続する流路を操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試薬ピン、溶剤ピンから試薬、溶剤等を反応器に送り込む給供手段とを具備し、かつ前記試薬、溶剤ポートを給液操作順に配列して、前記操作ツマミを一回転させたとき一つの組合工程における給供液操作が完了するよう構成してなることを特徴とするポリヌクレオチド合成装置。

2. 明細書第 5 頁第 6 行目記載の「装置ツマミ」を「操作ツマミ」と補正する。

3. 同第 30 頁第 9 行乃至同第 10 行目記載の「一

1

特許出願人 日本ゼオン株式会社

代理人 飯野 英雄

1 名



THIS PAGE BLANK (USPTO)